

	Fiche compte-rendu semestriel d'activité		Date : 20/07/2007
			Réf.: ANR/
			Nombre de pages : 4

Tâches	2007	2008		2009	2010	Commentaires
		S1	S2			
QTL analysis on PB260 x MDF180 (French Guiana pop.)		⌘	Δ			Détection de QTL sur MDF180 réalisée plus tôt que prévu sur carte SSR préliminaire
DNA extraction and paternity testing on new progenies			Δ			Trois nouvelles descendance pour carto.: descendants supplémentaires de PB260 x FX2784 de PEM; desc. sup. de PB260 x MDF180 de PMB; nouveau croisement (Sensible x Résistant = WxR) de PMB dont le choix est en cours
SSR mapping on PB260 x MDF180 (PMB pop.) and on one WxR progeny				Δ		100-200 SSR à génotyper par descendance
QTL analysis on 3 progenies				Δ	Δ	PB260xRO38; PB260 x MDF180 (PMB pop.); WxR
(Fine)-mapping of SSR on PB260 x FX2784 (PEM pop.)				Δ		8 marqueurs SSR à génotyper
Cirad + Michelin (Montpellier) : sous projet 3 (Gènes candidats)						
EST-SSH libraries related to the RO38 resistance: DNA sequencing and data mining	(⌘)	⌘	Δ			9216 clones d'EST de 6 banques SSH produits et séquencés (V. Pujade-Renaud, Cirad, Montpellier)
EST-SSH libraries related to the RO38 resistance: expression analysis		⌘	Δ	Δ		Réalisation de macro-arrays en cours
EST-SSH libraries related to the MDF180 resistance: data mining		⌘	Δ			6959 séquences d'EST de 4 banques SSH fournies par l' UESC (D. Garcia, Brésil)
EST-SSH libraries related to the MDF180 resistance: results of expression analyses				Δ		Etudes d'expressions réalisées à l' UESC par D. Garcia sur fonds propres. Les gènes candidats identifiés seront mis à disposition du projet.
Cirad + Michelin (Montpellier) : sous projet 2 (Développement de marqueurs)						
Search for SSR sequences in ESTs; test for polymorphic PCR markers		⌘	Δ			Analyse d'EST d'hévéa disponibles dans EMBL réalisée; tests de polymorphisme sur 2 nd semestre
Search for polymorphic markers in candidate ESTs				Δ	Δ	Recherche de SSR dans les EST ou dans les BAC-ends (BES) et de SNP
Map integration of candidate ESTs					Δ	
Cirad (Kourou, Guyane) :						
Resistance evaluation of the 300 additional PB260xRO38			×	Δ	▲	Evaluation de la Résistance (R) au champ des 118 F1 PB260xFX2784 réalisée antérieurement; tests R en conditions contrôlées sur ces descendants remplacés par tests sur 196 F1 PB260xMDF180, à réaliser en année 1 => tests sur PB260xRO38 reportés en années 2-3.
Resistance evaluation of the 118 F1 PB260xFX2784	(⌘)				×	
Resistance evaluation of 196 F1 PB260xMDF180		▲	▲			

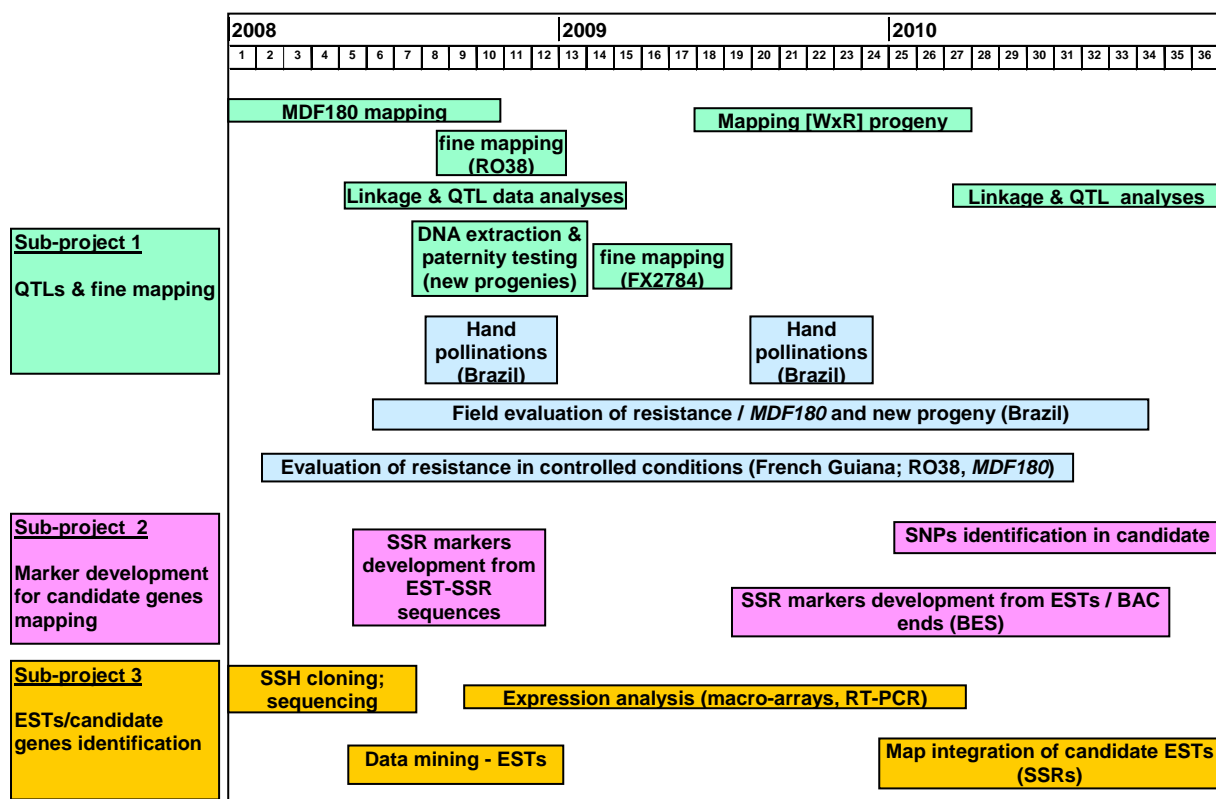
	Fiche compte-rendu semestriel d'activité				Date : 20/07/2007
					Réf.: ANR/
					Nombre de pages : 4

Tâches		2007	2008		2009	2010	Commentaires	
			S1	S2				
Michelin (Plantation Edouard Michelin - PEM, Plantation Michelin de Bahia - PMB, Brésil) :								
Crosses by hand pollinations, Brazil				Δ	Δ			
Filed resistance evaluation of 3 progenies: PB260xFX2784 (PEM), PB260xMDF180 and WxR (PMB)		(P)	P	Δ	Δ	Δ	Voir ci-dessus “Paternity testing”	
Δ	Prévu	▲	Reprévu	✕	Abandonné	P	Réalisé	

Indiquer les dates des réunions des projets :

* Ce tableau décrit les principales taches et livrables du projet qui ont été définis lors du démarrage du projet.

Updated work plan (July 2008)



	Fiche compte-rendu semestriel d'activité		Date : 20/07/2007
			Réf.: ANR/
			Nombre de pages : 4

C. Retombées cumulées sur la durée du projet

Cette section rassemble des éléments cumulés qui seront suivis tout au long de l'avancée du projet et repris dans son bilan. Ils permettent d'apprécier l'impact du programme à différents niveaux. Cette section est constituée d'un tableau des publications¹, et d'une liste de résultats éventuellement plus qualitatifs.

Nombre de publications et de communications cumulées sur la durée du projet.

Faire la séparation des actions impliquant un seul partenaire et celles résultant d'un travail en commun (« multipartenaires »)

	International		France		Actions de diffusion		
	Articles acceptés dans des revues à comité de lecture	Communications Internationales	Articles France	Communications France	Articles vulgarisation	Conférences vulgarisation	Autres
monopartenaires							
multipartenaires				Seguin et al. (2008) Présentation du projet GENESALB. <i>Séminaire Génoplante, Arles 2008</i> : Poster			

Autres retombées (voir en particulier celles annoncées dans l'annexe technique) :

Cette liste inventorie les brevets nationaux et internationaux, licences, et autres éléments de propriété intellectuelle consécutifs au projet, du savoir faire, des retombées diverses. . Elle en précise les partenariats éventuels.

Nature	Commentaire
Carte de 177 SSR de PB260xMDF180	Destiné au domaine public
Deux QTL majeurs identifiés chez MDF180 en Guyane	Destiné au domaine public
9120 séquences d'ESTs exprimés en relation avec la résistance/sensibilité (SSH)	Destiné au domaine public

D. Faits marquants du semestre écoulé (principaux résultats)

1- Le résultat le plus significatif obtenu au cours de ce 1^{er} semestre concerne l'analyse QTL de la résistance chez MDF180. Il est rappelé que ce clone d'*Hevea brasiliensis* pur, présente une résistance non contournée depuis 30 ans au Brésil (Le Guen et al. soumis) dont l'originalité est de permettre le développement du champignon (Sporulation) et ce pour la majorité des souches testées, mais sans jamais apparition de la forme sexuée (Stroma). Sa durabilité constatée la rend particulièrement intéressante pour la création de variétés (clones) à la fois tolérantes au SALB et à fort rendement en latex. L'observation de la distribution des notes de résistance, dans la descendance PB260xMDF180 en Guyane, suggérait que le déterminisme de cette résistance puisse être simple (mono génique) contrairement à ce que les

¹ La date de référence est la date de fourniture du rapport.

	Fiche compte-rendu semestriel d'activité		Date : 20/07/2007
			Réf.: ANR/
			Nombre de pages : 4

modèles théoriques laissent supposer dans le cas de résistances partielles durables (déterminisme multigénique).

Les résultats de l'analyse QTL confirment le déterminisme essentiellement mono génique de cette résistance pour les différents paramètres mesurés en conditions d'infestation naturelle comme en conditions d'inoculation contrôlée. Les résultats partiels montrent qu'on est en présence d'un locus majeur localisé sur le groupe de liaison g15, expliquant 90% (r^2) de la variabilité observée, pour les souches de Guyane et d'un second locus majeur ($r^2 = 60$ à 68%), sur le groupe de liaison g13 pour les souches bahianaises. De plus, ce second locus en g13 semble co-localiser avec le locus majeur de résistance identifié antérieurement chez RO38 (Le Guen et al 2003, TAG, 108: 160-167), mais la faible densité de marquage dans cette zone de la carte MDF180, ne permet pas de dire si ces deux locus sont très proches ou non. Quatre autres QTL mineurs $r^2 = 4$ à 8%) ont également été détectés et restent à confirmer.

Aucun QTL significatif n'a été détecté chez le parent sensible PB260, confirmant les résultats obtenus antérieurement pour ce clone dans 2 autres descendance (PB260xRO38 et PB260xFX2784).

La résistance apportée par MDF180 apparaît ainsi d'autant plus intéressante pour la sélection classique ou la SAM et il devient prioritaire d'analyser son comportement en ségrégation également au Brésil (voir ci-dessous).

2- Séquences d'EST : les 6 banques SSH (PB260-sensible vs RO38-résistant), créées en préparation au projet en 2007 (V. Pujade-Renaud, Cirad), ont pu être séquencées grâce au présent projet à raison de 1500 clones en moyenne par banque (en prestation externe auprès de la société GATC, sur financement Michelin). L'analyse préliminaire à l'aide du « pipeline » de traitement bioinformatique ESTtik (Xavier Argout) montre que ces séquences sont de bonne qualité et exploitables à 92%. De plus, dans le cadre du partenariat avec l'UESC (Ilheus, Bahia, Brésil), et conformément aux engagements pris dans GENESALB, 6959 séquences d'EST ont été fournies par Dominique Garcia. Ces EST proviennent de 4 banques SSH (PB314-sensible vs MDF180-résistant) produites à l'UESC par D. Garcia antérieurement au projet.

A l'issue de ce premier semestre, les ressources moléculaires nécessaires à la réalisation du sous projet 3 « Gènes candidats » sont donc disponibles et sont en cours d'analyse.

E. Description des travaux effectués et résultats obtenus pendant la période concernée. Conformité de l'avancement des travaux avec le plan initialement prévu. Prévision de travaux pour la (les) prochaine(s) période(s). Eventuellement, difficultés rencontrées et solutions de remplacement envisagées (15 lignes maximum) ex : impasse technique, abandon d'un sous traitant, maîtrise des délais, maîtrise des budgets. Faut-il revoir le contenu du projet ? Faut-il revoir le calendrier du projet ?

	Fiche compte-rendu semestriel d'activité		Date : 20/07/2007
			Réf.: ANR/
			Nombre de pages : 4

Les travaux ont été réalisés conformément au « work plan » annoncé :

- 1- Génotypage SSR (réalisé) et AFLP (en cours) de la descendance PB260xMDF180 de Guyane
- 2- Analyse QTL à l'aide des données de cartographie par SSR sur les données de notation de résistance au champ (Combi) et en inoculations contrôlées à l'aide de 3 souches de *Microcyclus* (Kourou) en Guyane. La carte obtenue à l'aide des 177 SSR n'est pas saturée (19 groupes de liaisons contre 18 attendus ; densité moyenne de 1 locus / 11 cM), mais donnait une couverture suffisante du génome pour permettre une première analyse QTL significative, sans attendre le génotypage par AFLP. L'identification de nouveaux facteurs de résistance a ainsi pu être obtenue plus tôt que prévu (voir ci-dessus).
- 3- Séquençage de 9216 clones des banques SSH (PB260 vs. RO38) produites par V. Pujade-Renaud à Montpellier (voir ci-dessus)
- 4- Mise à disposition de 6959 EST issues de 4 banques SSH (PB314 vs. MDF180) produites par D. Garcia (Cirad - UESC, Brésil ; voir ci-dessus)
- 5- Prétraitement bioinformatique des séquences EST-SSH de « RO38 » et de « MDF180 » et enregistrement dans une base de données interne (pipeline ESTtik). Constitution d'un « set-unigène » pour chaque banque EST-SSH « RO38 ».
- 6- A partir de ces « sets-unigène », préparation des membranes pour analyses d'expression par macro-arrays des EST-SSH de « RO38 » (stage de Master2 de M. Déon)
- 7- Identification de SSR dans les EST d'hévéa disponibles au début 2008 dans les banques de données internationales (EMBL-GENBANK/nr) ; il s'agit essentiellement d'EST de latex. L'analyse par ESTtik des 10848 EST a réduit le nombre d'entrées à 2913 « unigènes » dont 675 (23%) contenaient au moins 1 motif SSR. Le taux de polymorphisme de ces SSR reste à tester.
- 8- Compilation des données de notations de résistances sur des descendance de 6 géniteurs résistants pour le choix des nouvelles populations de cartographie. Ces notations sont des évaluations préliminaires faites en essais mono arbres (CES) et seront complétées par des mesures plus précises, au cours du projet, pour les descendance retenues pour la cartographie/QTL.

Il n'y a pas eu de problèmes nécessitant de modifier de façon importante le contenu ou le calendrier du projet. Cependant, sont listés ci-dessous les événements qui ont concerné le projet au cours du premier semestre. Des solutions ont été apportées ou sont proposées suite à la 1^{ère} réunion du CP par Michelin et le Cirad. Elles n'induisent aucune modification du budget.

1- Mouvements de personnel

- 1a. Raphaël Bortolazzo démissionnaire de Michelin (Brésil) a été immédiatement remplacé par Mr. Fernando Fonseca (PEM)
- 1b. Valérie Pujade-Renaud (Cirad), affectée actuellement à Montpellier, est détachée à compter du 01/09/08 à Clermont-Ferrand (Univ. Blaise Pascal) dans le cadre d'un renforcement du partenariat Cirad-Michelin. Elle poursuivra intégralement ses activités sur hévéa et notamment celles prévues dans GENESALB.
- 1c. Suite à un arrêt maladie de plusieurs mois de Marc Seguin, Vincent Le Guen affiché initialement dans le projet qu'à partir de 2009 a dû assurer l'encadrement scientifique de la

	Fiche compte-rendu semestriel d'activité		Date : 20/07/2007
			Réf.: ANR/
			Nombre de pages : 4

cartographie SSR de PB260xMDF180 et doit être affiché pour 0,1 ETP en compensation de - 0,1 ETP de M. Seguin au 1^{er} semestre 2008.

2- Modifications au projet proposées

Compte tenu des résultats importants d'identification de 2 QTL majeurs déterminant la résistance du géniteur MDF180 en Guyane, il apparaît prioritaire de réaliser l'analyse du même croisement au Brésil.

Sur la plantation Michelin de Bahia (PMB), 215 descendants de PB260xMDF180 sont disponibles et les observations au champ confirment la ségrégation de la résistance à PMB. Afin de maintenir un même volume d'activités, il est proposé de remplacer l'un des 2 nouveaux croisements qui devaient être analysés par cette nouvelle descendance (il s'agit à PMB de descendants supplémentaires, différents de ceux de Guyane).

De même, il est proposé de remplacer les inoculations contrôlées prévues en Guyane sur PB260xFX2784 par des inoculations avec une 4^{ème} souche de *Microcyclus* sur PB260xMDF180 afin d'affiner les résultats obtenus avec les 3 premières souches.

Les plants greffés de ces descendants de MDF180 étant disponibles à Kourou, il est également proposé de réaliser les inoculations sur ce matériel en 1^{ère} année. La préparation (greffage et installation à Kourou) de la descendance PB260xRO38 sera programmée fin 2008 pour des inoculations en 2009 et 2010.

L'évaluation de PB260xFX2784 à PEM est maintenue et l'opération « Fine-mapping » sur ce matériel n'est pas remise en cause.

F. Etat financier et ressources humaines

Bref descriptif de l'état de consommation des crédits

	Crédits consommés (en %)	Commentaire éventuel
Main d'œuvre (tous statuts confondus)	15	
Equipement	-	Pas d'achat d'équipement prévu dans le projet
Mission	1	Déplacements Arles 2008 ; 2 missions Brésil prévues au 2nd semestre
Fonctionnement/prestations	15 / 33	33% prestations = 29,4 k€ sur 90 k€ de séquençage (fin ^{nt} Michelin), suivant prévisionnel

En cas de variation supérieure à 30%, d'une ligne par rapport au budget prévisionnel, en donner les éléments justificatifs.

	Fiche compte-rendu semestriel d'activité		Date : 20/07/2007
			Réf.: ANR/
			Nombre de pages : 4

Bilan des CDD cumulés depuis le début du projet

	nombre de personnes employées en CDD sur le projet et financées par l'ANR	
	nombre	h-mois cumulés sur tous les partenaires depuis le début du projet
Doctorants	-	
Post-docs	-	
Ingénieur en CDD	-	
Stagiaires	1	4-mois (Mlle Marine Déon, Master 2)
Technicien en CDD	1	3-mois (Mme Sandra Espéout-Fois, recrutée par Michelin à compter du 01/04/08)

Commentaire général à l'appréciation du coordinateur, sur l'état d'avancement du projet, les interactions entre les différents partenaires...

Mis à part des problèmes techniques rencontrés lors de la mise en œuvre des AFLP sur séquenceur LiCOR, ce qui a retardé sans la compromettre la cartographie AFLP sur la descendance de MDF180, les principales modifications par rapports au projet initial sont dues d'abord à des mouvements de personnels, mais les solutions ont doré et déjà été apportées par les partenaires (Michelin et Cirad). Les modifications proposées sont également dues aux résultats préliminaires très positifs obtenus en cartographie/QTL de la résistance de MDF180 et qui justifient un investissement accru et immédiat sur cette source de résistance.

Facultatif : commentaire(s) de partenaire(s)...

	Fiche compte-rendu semestriel d'activité		Date : 20/07/2007
			Réf.: ANR/
			Nombre de pages : 4

Facultatif : question(s) posée(s) à l'ANR...

Vincent Le Guen est actuellement en 3^{ème} année de thèse au Cirad sur l'approche déséquilibre de liaison (DL) et études d'association sur la résistance au SALB. Il était initialement prévu qu'il n'intègre le projet GENESALB qu'en 2009, à l'issue de sa soutenance prévue fin 2008. Cependant, l'importance des facteurs de résistance identifiés chez le clone MDF180, a conduit à orienter sa dernière année de thèse sur l'analyse du DL dans les 2 régions chromosomiques concernées (en g13 et g15). De plus, V. Le Guen a dû me remplacer au labo au début 2008. Il est donc demandé que la cartographie/QTL de PB260xMDF180 (population de Guyane), dont la partie génotypage est réalisée dans GENESALB, puisse constituer un chapitre de sa thèse.